

HPLC法测定依降钙素注射液中主药的含量

陈 华*,梁蔚阳(广东省食品药品检验所,广州 510180)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)28-2679-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.28.30

摘要 目的:建立测定依降钙素注射液中主药含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Phenomenex Nucleosil C₈柱,流动相为0.1%三氟乙酸溶液-0.07%三氟乙酸乙腈溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,柱温为40 ℃,检测波长为220 nm,进样量为200 μl。结果:依降钙素进样量在1.0~2.5 U范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 0$);精密性、重复性试验的RSD均 $\leq 1.4\%$;平均回收率为103.4%,RSD=0.96%($n=9$)。结论:该方法简便、灵敏,结果准确、可靠,可用于测定依降钙素注射液中主药的含量。

关键词 依降钙素注射液;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Main Components in Elcatonin Injection by HPLC

CHEN Hua, LIANG Wei-yang(Guangdong Institute for Food and Drug Control, Guangzhou 510180, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the determination of main components in Elcatonin injection. METHODS: HPLC method was used. The determination was performed on Phenomenex Nucleosil C₈ column with 0.1% TFA-0.07% TAF acetonitrile (gradient elution) as mobile phases at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 40 ℃, and the detection wavelength was set at 220 nm. The sample size was 200 μl. RESULTS: The linear range of elcatonin was 1.0-2.5 U($r=0.999\ 0$). RSDs of precisions and reproducibility tests were lower than and equal to 1.4%. The average recovery of 103.4% (RSD=0.96%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive, accurate and reliable. It can be used for the content determination of main components in Elcatonin injection.

KEY WORDS Elcatonin injection; HPLC; Content determination

降钙素是由甲状腺滤泡旁细胞分泌的一种重要的多肽类激素^[1-2],有来源于鲑鱼的鲑降钙素和来源于鳗鱼的依降钙素。市售的依降钙素为人工合成的鳗鱼降钙素多肽衍生物,进口制剂为益盖宁,国内仿制产品名称为依降钙素注射液。该药主要作用是抑制破骨细胞活性,减少骨的吸收,防止骨钙丢失,治疗骨质疏松^[3-4],其对老年人腰背疼痛具有明显的改善作用^[5-6]。依降钙素注射液成分明确且单一,原国内企业注册标准采用生物检定法测定效价。用简便、快速、灵敏的理化方法替代费时、误差大、损害实验动物的生物检定法,是药品标准发展的趋势^[7-8]。笔者参考《中国药典》2010年版(二部)^[9]“鲑降钙素注射液”项下方法,尝试用高效液相色谱(HPLC)法替代生物检定法测定依降钙素注射液中主药的含量。

1 材料

1.1 仪器

2695型HPLC仪,包括717自动分离单元、2487检测器及515泵等(美国Waters公司);CPA225D型电子天平(德国赛多利斯公司,最小称量值:0.01 mg)。

1.2 药品与试剂

依降钙素国际标准品(世界卫生组织生物标准品实验室提供,ELCATONIN ASU-1-7 EEL CALCITONIN ANALOGUE 84/614, 15 U/支);依降钙素注射液(A制药有限公司,批号:20110551,20110552,20110565,规格:10 U/ml);三氟乙酸、乙腈为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

*副主任药师,本科。研究方向:生化药品检验及药品标准。电话:020-81887684。E-mail:gdchenhua@sina.com

2.1 色谱条件和系统适用性

色谱柱:Phenomenex Nucleosil C₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 300 Å);流动相:流动相A为0.1%三氟乙酸溶液,流动相B为0.07%三氟乙酸乙腈溶液,梯度洗脱程序见表1;流速:1.0 ml/min;柱温:40 ℃;检测波长:220 nm;进样量:200 μl。在上述色谱条件下,依降钙素峰与人血白蛋白峰的分度为1.9,理论板数按依降钙素峰计为90 000。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution process

| 时间, min | 流动相A, % | 流动相B, % |
|---------|---------|---------|
| 0 | 75 | 25 |
| 20 | 50 | 50 |
| 21 | 75 | 25 |
| 30 | 75 | 25 |

2.2 溶液的制备

对照品溶液:取依降钙素国际标准品1支,用水制成每1 ml中含10 U的溶液,即得;供试品溶液:取依降钙素注射液5支,混匀,即得;阴性对照溶液:按依降钙素注射液处方制备不含依降钙素的阴性样品,即得。

2.3 专属性试验

取“2.2”项下3种溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。另取依降钙素原料(批号:CC1001)适量,加辅料溶液配制浓度为100 U/ml的溶液,按以下条件进行破坏试验:(1)高温破坏。置于105 ℃下加热6.5 h。(2)酸破坏。加1 mol/L盐酸溶液2滴,室温放置30 min。(3)碱破坏。加1 mol/L氢氧化钠溶液2滴,室温放置30 min。经破坏后,分别按“2.2”项下方法处理得到供试品溶液,并分别按“2.1”项下

色谱条件进样,记录色谱,详见图1。由图1可见,依降钙素对热、酸、碱不稳定,易降解产生杂质,但经破坏后产生的杂质峰均可与主药依降钙素的峰达到基线分离,说明本方法专属性良好,方法可行。

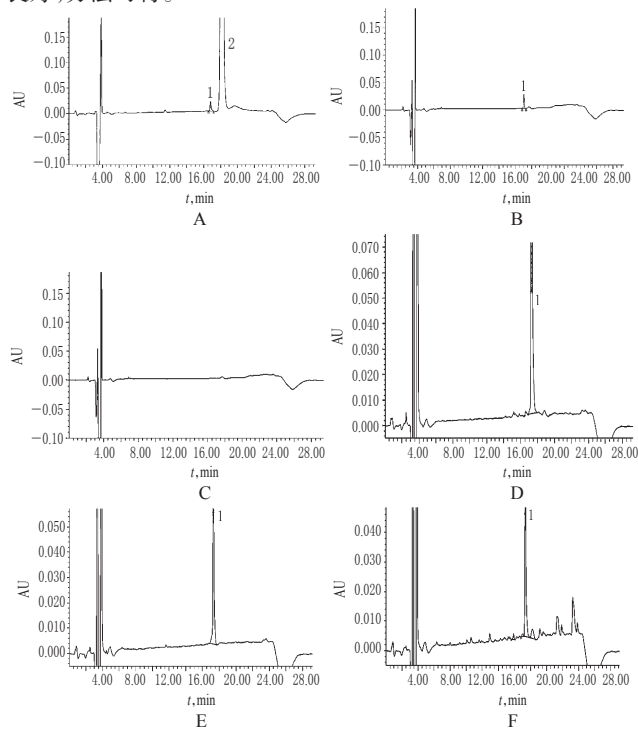


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;D.高温破坏;E.酸破坏;F.碱破坏;1.依降钙素;2.人血白蛋白

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; D. destroyed by high temperature; E. destroyed by acid; F. destroyed by alkali; 1. elcatonin; 2. human albumin

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下对照品溶液 100、125、150、200、250 μl ,按“2.1”项下色谱条件进样分析。以峰面积(y)为纵坐标,进样量(x , U)为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=806.41x-8277.8(r=0.9990)$ 。结果表明,依降钙素进样量在 1.0~2.5 U 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次(由于市售标准品含有白蛋白作稳定剂,因此可连续进样,无需立即进样),每次进样 200 μl 。结果,峰面积的 $RSD=0.6\%$,表明本法有较好的精密度。

2.6 稳定性试验

取“2.2”项下供试品溶液适量,置于进样瓶中,连续进样 2 次(间隔 30 min)。结果,第 2 次进样较第 1 次进样含量结果降低 8.8%,说明供试品溶液在进样瓶中放置不稳定。

2.7 重复性试验

取依降钙素注射液(批号:20110551)30 支,每 5 支一组,混匀,共 6 组,按“2.1”项下色谱条件进样,每次立即进样 200 μl 。结果,峰面积的 $RSD=1.4\%$,表明本法的重复性较好。

2.8 回收率试验

取已知含量的依降钙素原料(批号:CC1001,含依降钙素的量:4 679.04 U/mg),按处方量加辅料溶液(取枸橼酸钠 1 g,

加 0.9% 氯化钠溶液稀释至 2 000 ml,用 10% 枸橼酸溶液调节 pH 值至 5.5~6.0)分别制成含依降钙素为 8、10、12 U/ml 的溶液,立即按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=9$)

| 加入依降钙素原料的量 | 加入量,U/ml | 测得量,U/ml | 回收率,% | 平均回收率,% | RSD,% |
|------------|----------|----------|--------|---------|-------|
| 80% | 8.072 | 8.235 | 102.01 | 103.4 | 0.96 |
| | 8.140 | 8.304 | 102.01 | | |
| | 8.041 | 8.387 | 104.31 | | |
| 100% | 10.099 | 10.377 | 102.75 | | |
| | 10.283 | 10.771 | 104.74 | | |
| | 10.290 | 10.620 | 103.21 | | |
| 120% | 12.535 | 13.016 | 103.84 | | |
| | 11.983 | 12.485 | 104.19 | | |
| | 11.997 | 12.441 | 103.70 | | |

2.9 样品含量测定

取 3 批样品,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样分析,每次立即进样 200 μl ,测定并计算样品中主药的含量,结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 3 Results of content determination of samples($n=3$)

| 批号 | HPLC法,% | 生物检定法,% |
|----------|---------|---------|
| 20110551 | 107.5 | 115.1 |
| 20110552 | 109.1 | 117.2 |
| 20110565 | 107.5 | 116.1 |

3 讨论

3.1 创新性

依降钙素注射液原企业注册标准采用生物检定法测定效价,现参考依降钙素原料进口注册标准及《中国药典》2010 年版(二部)“鲑降钙素注射液”项下方法,尝试用 HPLC 法替代生物检定法测定依降钙素注射液的质量。本方法简便、灵敏,结果准确、可靠,可用于测定该制剂中主药的含量。

3.2 HPLC 法的优越性

从表 3 中可见,HPLC 法测定含量结果比生物检定法低。用 HPLC 法测定过程中发现,该制药公司生产的依降钙素注射液置于玻璃进样瓶中放置不稳定,含量有缓慢下降趋势,可能主药被进样瓶吸附,亦有可能是进样瓶与主药产生某些反应导致含量下降。而用生物检定法测定,过程中也用到各种器具,但测定结果却没有体现出效价下降的趋势。这似乎能够说明,在依降钙素注射液含量测定中采用 HPLC 法比生物检定法更灵敏,能发现生物检定法未能发现的问题,更能客观反映依降钙素注射液的质量。

3.3 方法验证的非常规性

因为在研究过程中发现该制药公司生产的依降钙素注射液对玻璃进样瓶不稳定,在进行方法学研究时,采取了某些非常规的手段,如供试品溶液均采用即配即用的办法进行测定。以重复性试验为例,采用 30 支分成 6 组,每组 5 支混匀后立即进样,用 6 组结果进行统计分析。采用该办法后方法学验证结果良好。

参考文献

- [1] 侯笑然,张庆,李国坤,等.降钙素的研究进展[J].中国药房,2011,22(17):1 617.
- [2] 王谦,刘光军,许硕贵.各类抗骨质疏松药物的临床研究进展[J].实用医药杂志,2010,27(4):368.

浅谈我院开展临床药学工作之经验

柯 岚*,曹祥杰*(阳新县人民医院,湖北 阳新 435200)

中图分类号 R95 文献标志码 C 文章编号 1001-0408(2013)28-2681-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.28.31

摘要 目的:为基层医疗卫生机构开展临床药学工作提供参考。方法:介绍我院临床药学室、门诊药房、住院药房开展临床药学工作的实践经验。结果:临床药学工作室的工作包括帮助制定医院基本用药目录,定期出版《医院药讯》,开展药品不良反应监测,建立临床药师查房制度等;门诊药房从封闭的窗口发药型改为开放式的柜台型,从发药型改为专业知识型,从被动型改为主动型;住院药房在做好临床用药咨询的同时,开展了临床不合理用药监测。结论:基层医疗卫生机构开展临床药学工作应当努力争取领导重视,提高药师自身素质,提升药师交流技巧。

关键词 基层医疗卫生机构;临床药学;经验

On the Experience of Clinical Pharmacy in Our Hospital

KE Lan, CAO Xiang-jie (Yangxin County People's Hospital, Hubei Yangxin 435200, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide reference for the development of clinical pharmacy in primary medical institution. METHODS: The experience of the development of clinical pharmacy in clinical departments, outpatient pharmacy and inpatient pharmacy of our hospital were introduced. RESULTS: Clinical pharmacy department should develop hospital essential drug list, publish Hospital Pharmacy Information regularly, carry out ADR monitoring and build system of clinical pharmacist ward round, etc. Open counter service of outpatient pharmacy replaced the enclosed service window; professional type was popularized instead of drug dispensing type; passive working type replaced active one. Clinical drug use consultation was carried out in the inpatient pharmacy, and irrational drug use monitoring was also developed. CONCLUSIONS: The leadership attaches great importance to the development of clinical pharmacy in primary medical institution, and the improvement of their own quality and communication skill of pharmacist are also required.

KEY WORDS Primary medical institution; Clinical pharmacy; Experience

当前,医院药学已从过去的供应保障型转变成药学服务型,临床药学是医院药学工作的发展方向。但基层医疗卫生机构由于受医疗设备差、药学人员素质偏低等多方面因素的影响,其临床药学工作的开展仍面临严峻的挑战,如基层医疗卫生机构现阶段尚不能开展血药浓度监测、生物利用度考察等工作,加之没有可借鉴的固定模式,所以基层医疗卫生机构开展临床药学工作困难重重。我院是一所二级甲等医院,我院药剂科学术带头人带领全科人员开展了一些力所能及的临床药学方面的工作,实现了临床药学服务于临床,并取得了一

定的社会效益和经济效益。本文中,笔者将介绍我院开展临床药学工作的实践经验,以供参考。

1 临床药学工作室开展的相关工作

我院是一所县级综合性医院,共有药学工作人员30余人,随着国家逐渐淘汰医院制剂的导向,医院大输液生产纷纷下马,制剂生产规模逐渐萎缩,大量药学工作人员富余,如何转变制剂室工作职能,发挥我科技术力量,给我科管理人员提出了新的挑战。为此,我科决定由一名主任药师牵头,并新招聘了两名一类大学本科的药学系毕业生,成立了临床药学工作

[3] 王建东,章晔,吴小峰,等.益盖宁治疗骨质疏松症的疗效观察[J].临床骨科杂志,2002,5(3):199.

[4] 李井山,张石龙.骨质疏松骨折治疗的药物选择[J].中国老年学杂志,2011,31(23):4732.

[5] 吴庆昌,周丽.益盖宁对骨质疏松并心瓣膜钙化老年人腰背疼痛的改善作用[J].中国骨质疏松杂志,2004,10(3):333.

[6] 张欣,肖进.降钙素治疗骨质疏松疼痛[J].中国疼痛医学杂志,2011,17(11):654.

[7] 李湛君,杨昭鹏,徐康森.生物检定法与HPLC法测定重组人生长激素(rhGH)效价的相关性验证[J].药物分析杂志,1998,18(2):95.

[8] 陈西敬,朱家壁,王广基,等.HPLC法和生物检定法对胰岛素吸入粉雾剂含量测定的比较[J].中国药科大学学报,2001,32(4):313.

[9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1103.

(收稿日期:2013-01-14 修回日期:2013-05-27)

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0714-7321297。E-mail: wwh69398393@vip.qq.com

通信作者:主管药师。研究方向:医院药学。电话:0714-7314376。E-mail: caoxiangjie@yeah.net